

---

## Тема 4. Ферменты (энзимы)

**Ферменты** (от лат. *fermentum* – закваска) или **ЭНЗИМЫ** (от греч. *en zyme* – в дрожжах) – биологические катализаторы белковой природы. Ускоряют биохимические реакции, сами при этом не расходуются.

**Энзимология** – раздел биохимии, изучающий ферменты.

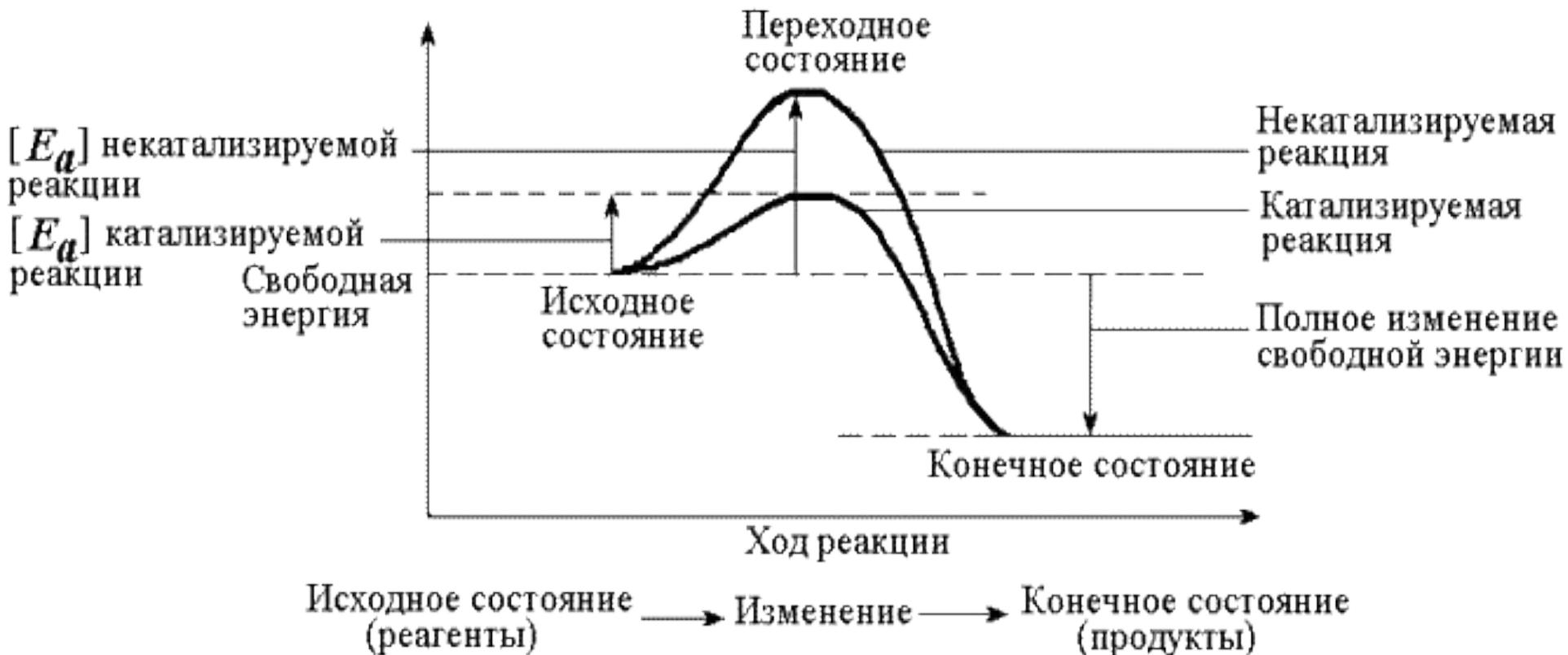
**Субстрат** – вещество, превращение которого катализируется ферментом.

---

Фермент, соединяясь с субстратом, образует фермент-субстратный комплекс (ФСК):



Образование ФСК способствует снижению энергетического барьера, который нужно преодолеть молекуле субстрата для вступления в реакцию:



По завершении реакции ФСК распадается на продукт (продукты) и исходный фермент.

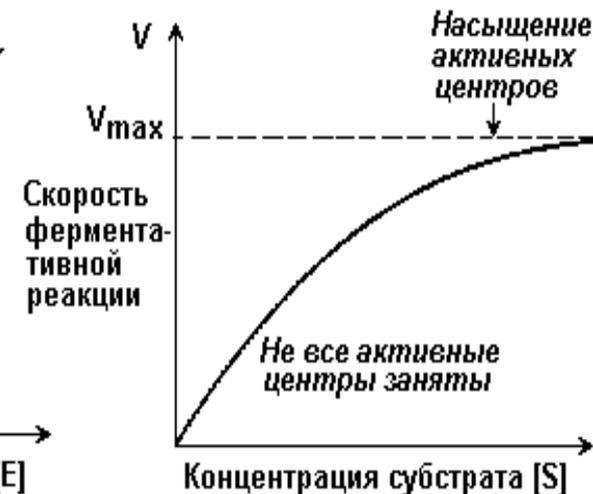
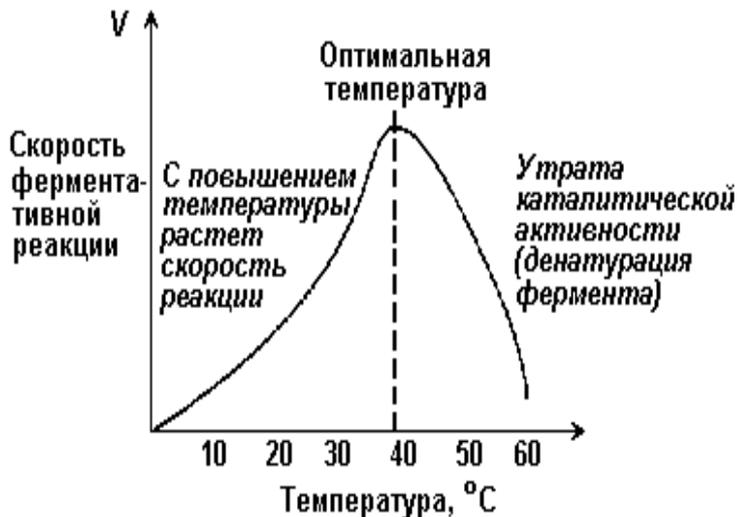
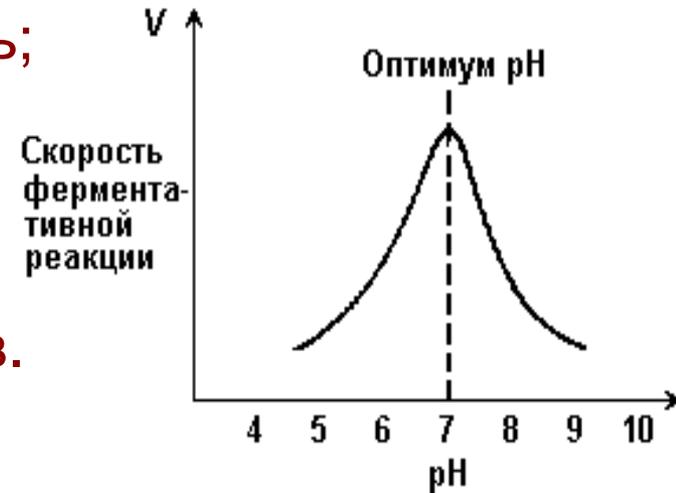
---

## **Свойства ферментов как белков:**

- положительная биуретовая реакция;
  - гидролизаты ферментов дают положительную нингидриновую реакцию;
  - потеря каталитических свойств при тепловой денатурации;
  - неспособность к диализу;
  - подвижность в электрическом поле;
  - способность образовывать коллоидные растворы;
  - способность осаждаться из коллоидных растворов ацетоном, спиртом, сульфатом аммония.
-

## Специфичные свойства ферментов:

- олигодинамичность и избирательность;
- зависимость скорости реакции от температуры, pH среды, концентрации фермента и субстрата, присутствия активаторов и ингибиторов.



---

**Олигодинамичность** – высокая эффективность действия ферментов в очень малых количествах. Обусловлена очень высокой скоростью регенерации ферментов.

**Мерой скорости** ферментативных реакций служит количество субстрата, подвергшегося превращению в единицу времени, или количество образовавшегося продукта.

При высокой концентрации субстрата (многократно превышающей концентрацию фермента) и при постоянстве других факторов скорость ферментативной реакции пропорциональна концентрации фермента.

При постоянной концентрации фермента скорость катализируемой реакции возрастает с увеличением концентрации субстрата до максимальной величины  $V_{\max}$ , после чего остаётся постоянной.

---

---

Значение температуры, при котором скорость реакции максимальна, представляет собой температурный оптимум фермента (для большинства ферментов 40-60 °С).

Значение рН, при котором скорость реакции максимальна, представляет собой оптимум рН фермента. Изменение рН в кислую или щелочную сторону от оптимума приводит к изменению степени ионизации кислых и основных групп аминокислот фермента, – это вызывает изменение его конформации и снижение сродства к субстрату; при экстремальных значениях рН происходит денатурация и инактивация фермента.

**Активаторы** повышают скорость ферментативной реакции.

**Ингибиторы** понижают скорость ферментативной реакции.

---

## Специфичность действия ферментов

- **абсолютная** – избирательная способность фермента катализировать только единственное из возможных превращений одного субстрата.
- **относительная** – избирательная способность фермента катализировать однотипные превращения сходных по строению субстратов.
- **стереохимическая** – избирательная способность фермента катализировать превращение только одного из возможных пространственных изомеров субстрата.

Разные гидролитические ферменты действуют на определённый тип связей:

- амилаза – на гликозидные связи;
- пепсин и трипсин – на пептидные связи;
- липаза и фосфолипаза – на сложноэфирные связи.

# Основные принципы классификации ферментов

## Enzyme Classification (EC)

В основу классификации положен важнейший признак, по которому один фермент отличается от другого – это катализируемая им реакция.

**Все известные ферменты подразделяются на 6 классов:**

- 1) оксидоредуктазы (окислительно-восстановительные реакции);
- 2) трансферазы (перенос функциональных групп от одного соединения к другому);
- 3) гидролазы (реакции расщепления с участием воды);
- 4) лиазы катализируют реакции присоединения групп по двойным связям и обратные реакции отрыва таких групп;
- 5) изомеразы (изомерные превращения);
- 6) лигазы (синтез с затратой молекул АТФ).

---

Ферменты каждого класса делят на **подклассы**, руководствуясь строением субстратов. В подклассы объединяют ферменты, действующие на сходно построенные субстраты.

Подклассы разбивают на **подподклассы**, в которых ещё строже уточняют структуру химических групп, отличающих субстраты друг от друга.

Внутри подподклассов перечисляют **индивидуальные ферменты**.

---

---

**Шифр (код) фермента** – классификационный номер фермента по международной иерархической классификации.

Любой фермент имеет свой уникальный код (номер), состоящий из четырёх чисел, разделённых точками: первое число обозначает класс, второе – подкласс, третье – подподкласс, четвёртое – номер фермента в пределах подподкласса.

---

---

## Понятие о систематическом и рабочем названии фермента

**Систематическое название** состоит из двух частей: первая часть содержит название субстрата (субстратов), часто – наименование кофермента, вторая часть указывает на природу катализируемой реакции и включает название класса, к которому относится данный фермент. При необходимости приводится дополнительная информация о реакции в скобках после второй части названия.

В качестве **рабочего названия** может быть использовано тривиальное название.

---

# Методы исследования активности ферментов

## Стандартные единицы выражения активности ферментов:

Одна единица (Е) – количество фермента, которое при заданных условиях катализирует превращение 1 мкмоль субстрата в 1 минуту.

Концентрации раствора ферментов приводятся в единицах активности на 1 мл раствора.

## Активность ферментов:

- **общая** – такое количество фермента, которое катализирует превращение 1 мкмоль субстрата в единицу времени в расчёте на количество материала, взятого для исследования

$$a = \frac{\Delta C}{V \times t} \times n,$$

- **удельная** – такое количество фермента, которое катализирует превращение 1 мкмоль субстрата в единицу времени в расчёте на 1 мг белка пробы

$$\text{Удельная активность} = \frac{\text{Общая активность}}{\text{Количество белка}}$$

- **молекулярная** (число оборотов фермента) – это количество моль субстрата, подвергающееся превращению под действием 1 моль фермента в единицу времени (обычно в 1 минуту).

---

## Методы измерения активности ферментов

различаются по технике исполнения, специфичности, чувствительности:

- **фотоэлектроколориметрические** методы – цветные реакции с одним из продуктов действия ферментов;
  - **спектрофотометрические** методы – изменение ультрафиолетового спектра химических веществ, принимающих участие в ферментативной реакции;
  - **флюориметрические** методы – под влиянием облучения исследуемый объект излучает свет с более короткой длиной волны;
-

---

- **хемилюминесцентные** методы (применение люциферин-люциферазной системы) – измерение интенсивности световых вспышек образующихся комплексов с ферментами;

- **титрометрические** методы – для ферментативных реакций сопровождается изменением рН инкубационной смеси

- **манометрические методы** – измерение объёма газа, выделившегося (или поглощённого) в ходе энзиматической реакции в закрытом реакционном сосуде.

---